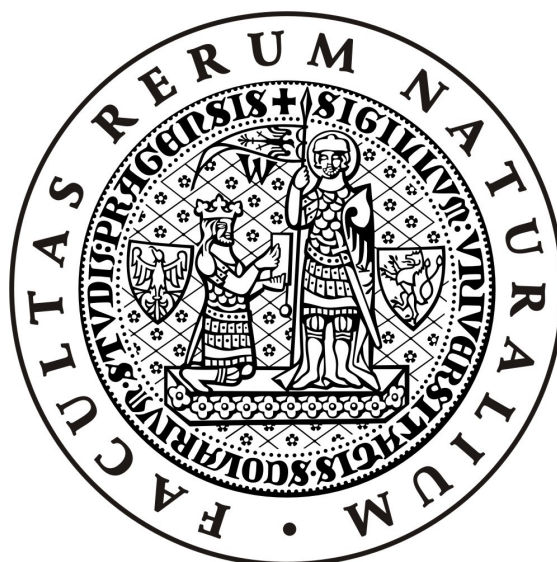


**Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta**

Katedra Biochemie



**SYNTÉZA ELLIPTICINU A JEHO
FARMAKOLOGICKY ÚČINĚJŠÍHO DERIVÁTU, 13-
HYDROXYELLIPTICINU**

**SYNTHESIS OF ELLIPTICINE AND ITS
PHARMACOLOGICALLY MORE EFFICIENT
DERIVATIVE, 13-HYDROXYELLIPTICINE**

Autor: Jan Hájek

Vedoucí práce: Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.

Praha, červen 2010

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval svému konzultantovi, **Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc** za vedení mé práce, připomínky a čas, který mi věnovala.

Práce byla vypracována jako součást řešení grantů GAČR (P301/10/0356) a MŠMT ČR (MSM 0021620808 a 1M0505)

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a použil pouze uvedené prameny a literaturu.

V Praze dne 3.června 2009

.....
Jan Hájek

Abstrakt

Ellipticin (5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]karbazol) je přírodní alkaloid izolovaný z *Ochrosia elliptica*¹⁾ z čeledi Apocyanaceae, jehož protinádorový efekt je způsobený především interkalací do molekuly DNA, tvorby kovalentních aduktů s DNA a inhibicí topoisomerázy II. Znamé syntézy této látky vycházejí ze sloučenin obsahujících dva, respektive tři aromatické kruhy, ze kterých je cyklizačními a/nebo adičními reakcemi získán ellipticin či jeho deriváty. 13-hydroxyderivát ellipticinu lze připravit jednak *de novo* již při syntéze ellipticinu, jednak modifikací již syntetizovaného ellipticinu.

Klíčová slova: ellipticin; syntéza; deriváty ellipticinu

Abstract:

Ellipticine (5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazole) is plant alkaloid isolated from *Ochrosia elliptica*¹⁾ (*Apocyanaceae*). Ellipticine's anticancer effect is mainly caused by its intercalation into DNA, formation of covalent adduct with DNA and inhibition of topoisomerase II. Known syntheses of ellipticine are based on chemicals containing two or three aromatic cycles that are used in cyclisation and/or addition reaction to get ellipticine or ellipticine derivatives. 13-hydroxyellipticine can be prepared *de novo* as a product of casual ellipticine synthesis, or as a modification of already synthesised ellipticine.

Keywords: ellipticine; synthesis; derivatives of ellipticine

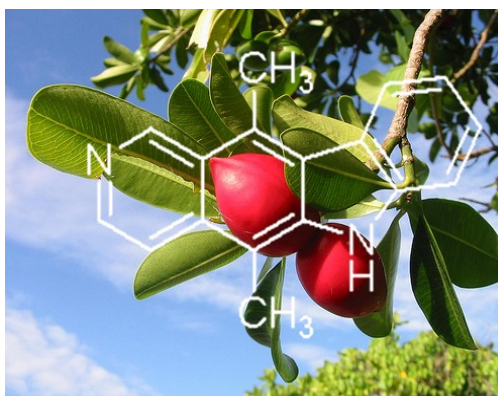
Obsah

| | |
|--|----|
| 1 Úvod..... | 2 |
| 1.1 Ellipticin jako protinádorové léčivo..... | 2 |
| 1.2 Interkalace ellipticinu do dvojšroubovice DNA..... | 2 |
| 1.3 Aktivace ellipticinu cytochromy P450..... | 3 |
| 1.4 Ovlivnění apoptosy buňky ellipticinem..... | 5 |
| 1.5 Metabolismus ellipticinu..... | 6 |
| 2 Cíl bakalářské práce..... | 7 |
| 3 Přehled syntetických přístupů pro syntézu ellipticinu..... | 8 |
| 3.1 Syntesa ellipticinu vycházející ze sloučenin obsahujících dva aromatické kruhy..... | 8 |
| 3.1.1 Syntéza ellipticinu adicí derivátu pyridinu na derivát 1-H-indolu..... | 8 |
| 3.1.1.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Ketcha a Gribbleho..... | 9 |
| 3.1.1.2 Syntetická dráha ellipticinu podle Zee a Su..... | 10 |
| 3.1.1.3 Syntetická dráha ellipticinu podle Yasuyoshi a kolektivu | 11 |
| 3.1.2 Syntéza ellipticinu adicí benzenu na derivát isochinolinu..... | 12 |
| 3.1.2.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Millera a Dugara..... | 12 |
| 3.1.2.2 Syntetická dráha ellipticinu podle Miyakeho | 13 |
| 3.1.3 Syntéza ellipticinu dvojnásobnou intra-molekulární cyklizací aminu se dvěma aromatickými kruhy | 14 |
| 3.1.3.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Differdinga a Ghoseze..... | 15 |
| 3.1.4 Využití adice alifatického řetězce na derivát indolu pro syntézu ellipticinu..... | 16 |
| 3.1.4.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Ishikura a kolektivu | 17 |
| 3.2 Syntesa ellipticinu vycházející ze sloučenin se třemi aromatickými kruhy..... | 18 |
| 3.2.1 Syntéza ellipticinu adicí šestičleného cyklu na furoindol | 18 |
| 3.2.1.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Davise a Gribbleho..... | 19 |
| 3.2.1.2 Syntetická dráha ellipticinu podle Diaze, Cobase a Gutiána..... | 19 |
| 3.2.1.3 Syntetická dráha ellipticinu podle Maye a Moodyho..... | 20 |
| 3.2.2 Syntéza ellipticinu adicí aminu na karbazol-3-karbaldehyd..... | 21 |
| 3.2.2.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Jacksona a kolektivu | 21 |
| 3.2.2.2 Syntetická dráha ellipticinu podle Konakahary a kolektivu..... | 22 |
| 4 Příprava 13-hydroxyellipticinu..... | 24 |
| 5 Závěr..... | 26 |
| 6 Literatura:..... | 27 |

1 Úvod

1.1 Ellipticin jako protinádorové léčivo

Ellipticin (5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]karbazol) (Obrázek 1) je přírodní alkaloid poprvé izolovaný v roce 1959 z *Ochrosia elliptica*¹⁾ z čeledi Apocyanaceae, stálezeleného stromu rostoucího v Oceánii. Tato látka byla studována jako potenciální protinádorové léčivo - mnoho rozpustných derivátů vykazuje jak protinádorové účinky, tak i cytotoxický efekt a vykazují slibné výsledky v léčbě rakoviny prsu, mozkových nádorů a myeloblastické leukemie²⁾. Hlavní důvod zájmu o tuto látku je nejen vysoká účinnost proti určitým typům rakoviny, ale především vzhledem k jeho nízkým toxickým vedlejším účinkům a nízké hematotoxicitě. Protinádorové účinky ellipticinu lze vysvětlit několika mechanismy.



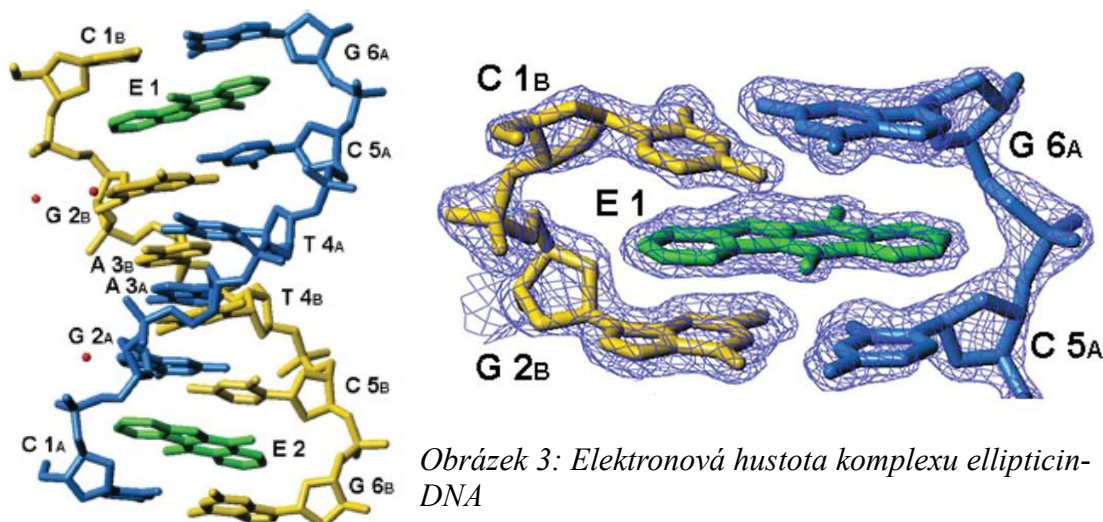
Obrázek 1: Ellipticin³⁾

1.2 Interkalace ellipticinu do dvojšroubovice DNA

Krystalografické studie komplexu ellipticinu vázaného na ribonukleosid monofosfát⁴⁾ dokázaly, že se ellipticin při interkalaci do DNA dostává do pozice paralelní s bázemi a váže se pomocí π vazeb a vodíkových můstků mezi báze (Obrázek 2). Tento typ vazby odpovídá i hydrodynamickým studiím, které byly provedeny k určení vazebného úhlu vazby ellipticinu, který odpovídá vazbě interkalačního činidla ethidiumbromidu. V dalších studiích byly provedeny také molekulárně-dynamické simulace studující hydroxyderiváty ellipticinu⁵⁾. Podle nich by se 9-hydroxyellipticin při interkalaci měl vázat v orientaci kolmé k podélné ose párů bází.⁶⁾

Interkalace ellipticinu do molekuly DNA je znázorněna na obrázku 2, kde je

ellipticin interkalován do hexanukleotidu CGATCG⁶⁾, čímž dochází ke změně charakteristického tvaru dvojšroubovice a vzniku asymetrické jednotky na DNA. Na obrázku 3 je zachycena elektronová hustota vzniklého komplexu ellipticin – DNA v oblasti malého žlábků.⁶⁾

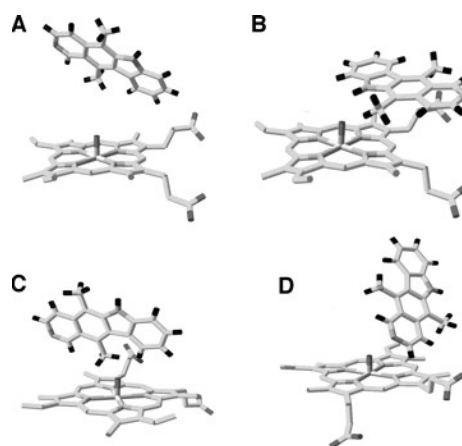


Obrázek 2: Interkalace ellipticinu do molekuly DNA ²⁾

Obrázek 3: Elektronová hustota komplexu ellipticin-DNA

1.3 Aktivace ellipticinu cytochromy P450

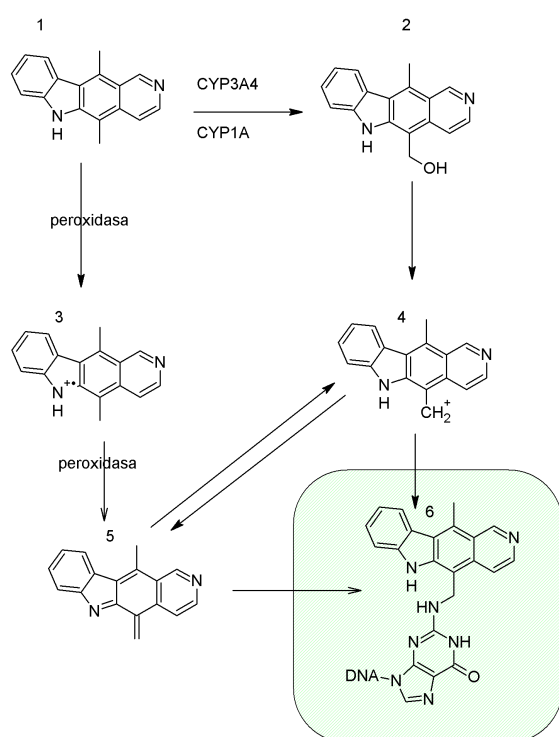
Některé deriváty ellipticinu – především některé hydroxyderiváty - jsou zodpovědné za kovalentní vazbu do molekuly DNA. Živý organismus je sám schopný některé tyto deriváty vytvářet. Lidské cytochromy P450 jsou schopné ellipticin aktivovat (hydroxylovat) na několika místech jeho molekuly. Ellipticin se může vázat do aktivního místa oxo-ferrylové formy CYP3A4 několika způsoby (Obrázek 4). Nejvíce populovaná je



Obrázek 4: Koordinace ellipticinu na CYP3A4 ⁷⁾

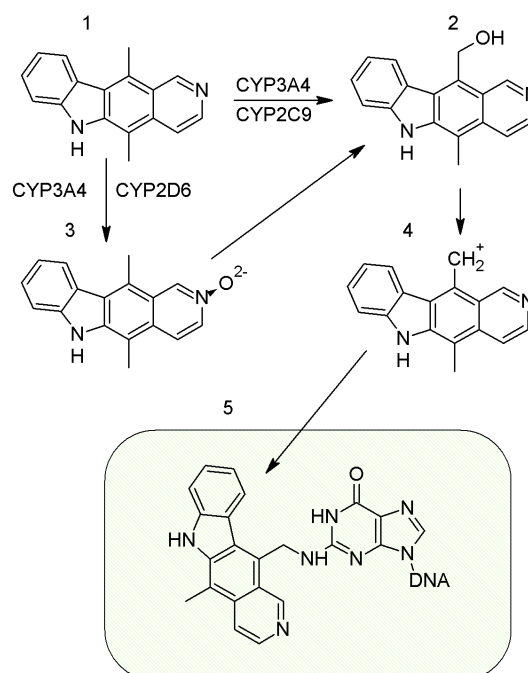
forma A znázorněná na obrázku 4, která však má všechny atomy elliptycinu příliš vzdálené od oxo-ferroskupiny, což neumožňuje jejich následnou oxidaci resp. hydroxylaci. Enzymovou reakci umožňuje nejlépe vazba uvedená v části B obrázku 4, ve které jsou vodíky methylového uhlíku C-13 a dusík N-6 dislokovány ve velmi malé vzdálenosti od kyslíku vázaného na atomu železa hemové skupiny, což usnadňuje možnou hydroxylaci v poloze C-13. Cytochrom P450 v takovéto konformaci s ellipticinem snadno vytváří hydroxyderivát v pozici na uhlíku C-13. Pozice interakcí elliptycinu s CYP3A4 uvedené na částech C a D obrázku 4 jsou minoritní především díky prostorovému uspořádání aktivního centra tohoto cytochromu P450, umožňují však také hydroxylaci elliptycinu v pozici uhlíku C-12, C-10 a oxidaci dusíku N-2⁷⁾.

12-hydroxyellipticin resp. 13-hydroxyellipticin jsou prekurzory pro jejich reaktivní produkty ellipticin-12-(resp.13)-ylium, které jsou schopné přímé vazby na deoxyguanosin DNA za vzniku příslušného aduktu. Katalytické cesty vedoucí k tvorbě obou aduktů elliptycinu s DNA jsou znázorněny ve Schematech 1 a 2.⁸⁾



Schema II: Katalytická cesta vedoucí k tvorbě aduktu deoxyguanosinu DNA s 13-hydroxyellipticinem⁸⁾

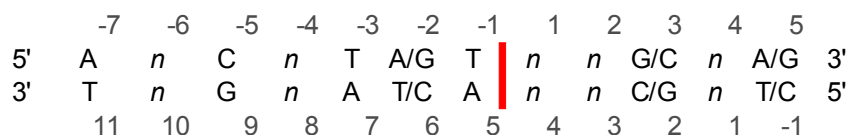
(1-ellipticin; 2- 13-hydroxyellipticin, 3-radikál elliptycinu, 4-ellipticin-13-ylum, 5- ellipticin methylen-imin, 6-deoxyguanosin adukt)



Schema I: Katalytická cesta vedoucí k tvorbě aduktu deoxyguanosinu DNA s 12-hydroxyellipticinem⁸⁾

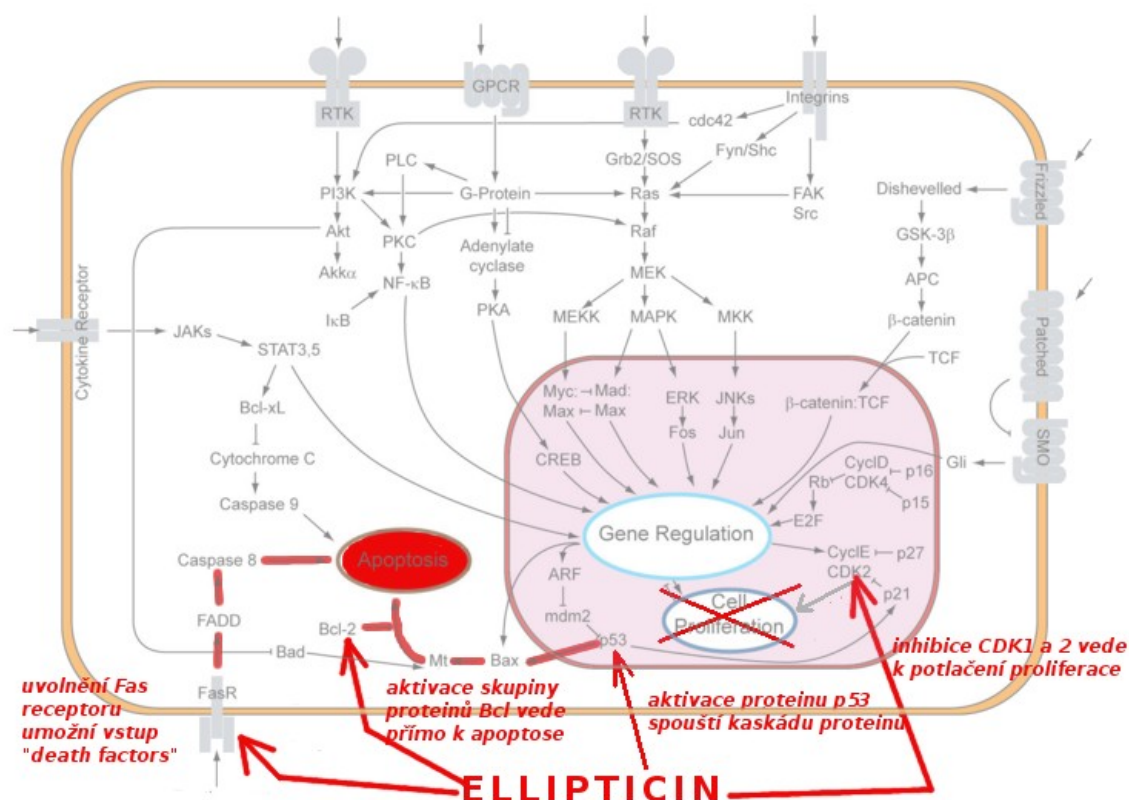
(1 – ellipticin, 2-12-hydroxyellipticin, 3-ellipticin-N²-oxid, 4- ellipticin-12-ylum, 5- deoxyguanosin adukt)

Interkalace ellipticinu mezi báze vede k výrazné změně prostorové konformace DNA, která je zodpovědná za inhibici topoisomerázy II. Ellipticin tak zároveň způsobuje zlomy na dvojšroubovici DNA, které vznikají zachycením topoisomerázy II přechodnou kovalentní vazbou do komplexu s DNA⁹⁾ (tzv „cleavable complex“). Restrikční místo (označeno znakem „*“ tohoto komplexu je 5' – ANCNT(A/G)T* NN(G/C)N(A/G)-3'¹⁰⁾, která je strukturně podobná sekvenci TTAGGG, a která se opakuje na koncích oblastech chromozomů obratlovců – v repetitivních sekvencích telomeru. Délka těchto úseků je závislá na stádiu proliferace a stáří buňky. Mechanismus zkracování těchto úseků v lidských buňkách však není znám. U „nesmrtelných“ (proliferujících buněk) a nádorových buněk dochází ke stabilizaci telomerů a tedy i těchto opakujících se úseků. Ellipticin vytváří preferenci pro štepení v -1 T a +5 A¹¹⁾¹²⁾.



1.4 Ovlivnění apoptosy buňky ellipticinem

Několika studiemi bylo dokázáno, že ellipticitin je schopný ovlivnit průběh apoptosy buňky či apoptosu přímo iniciovat. Buněčný cyklus zastavuje ellipticin ve fázích S nebo G₂/M. Na jedné straně ovlivňuje buněčný cyklus regulací exprese cyklinu B1, zároveň reguluje fosforylaci cyklin-dependentní kinázy 1 (Cdc2). Ellipticin také indukuje jaderný přechod p53 a Akt-proteinů, který se v první řadě projeví fragmentací poly(ADP-ribosa)polymerazy (PARP). Mimo to je schopný i regulací fosforylace Akt-proteinů regulovat endogenní signály pro přežití buněk.¹³⁾ Navíc regulace Bcl-2 proteinů v konečném důsledku indukuje buněčnou smrt.⁷⁾ Zároveň bylo ve studiích Hagga et.al. v roce 2004 prokázáno, že ellipticinem zprostředkovaná apoptósa může být indukována také stresem endoplasmatickým retikula¹⁴⁾. Je tedy patrné, že ellipticin dokáže indukovat buněčnou smrt jak mitochondriální tak Fas receptorovou drahou (Obrázek 5¹⁵⁾)



Obrázek 5: Místa zásahu ellipticinu do signálních kaskád¹⁾

1.5 Metabolismus ellipticinu

Ellipticin a jeho metabolity jsou transportovány krví do různých orgánů a tkání. Jeho vyloučení z organismu je dokončeno do 24 hodin ¹⁶⁾¹⁷⁾. Hlavním orgánem biotransformace jsou játra, která přednostně vytváří 9-hydroxyellipticin, který je vylučován převážně žlučí ve formě glukosiduronátu nebo sulfátového konjugátu. Další dráhy *in vivo* vedou k hydroxylaci v dosud nezjištěné pozici. Při pokusech *in vitro* byla prokázána aktivita jaterních mikrosomů, které jsou schopné hydroxylovat ellipticin v pozici uhlíků 7, 9, 12 a 13 a oxygenovat na dusíku v poloze 2. ¹⁸⁾ V důsledku vazby na DNA (jak je uvedeno výše výše) je možné ellipticin najít v živém organismu v komplexem s DNA především v jádrech buněk, v první řadě v jádrech buněk jaterních, následovaných jádry buněk ledvin, plic, střev a sleziny.

2 Cíl bakalářské práce

Vzhledem k tomu, že struktura kovalentních aduktů tvořených 13-hydroxy- a 12-hydroxyellipticinem v DNA nebyla dosud zcela jednoznačně určena, cílem výzkumu laboratoře, kde byla bakalářská práce vypracovávána, je syntetizovat dostatečná množství těchto látek spolu s parentální molekulou, ellipticinem, která bude využita pro syntézu aduktů s DNA a jejich charakterizaci.

Cílem bakalářské práce bylo tedy vypracovat přehled (rešerši) literárních údajů informujících o úspěšných syntézách obou těchto sloučenin.

3 Přehled syntetických přístupů pro syntézu ellipticinu

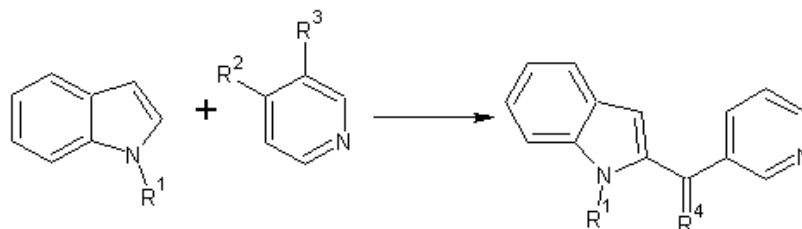
Syntesu ellipticinu jde provést několika různými syntetickými cestami. V souhrnu však většina syntes vychází z dvou typů látek. A to z látek obsahujících dva nebo tři aromatické kruhy.

3.1 Syntesa ellipticinu vycházející ze sloučenin obsahujících dva aromatické kruhy

Syntetické cesty vycházející ze sloučenin ze dvou aromatických jader lze charakterizovat jako různě složité intramolekulární cyklizační reakce, u kterých je cyklizace provedena pomocí azidů, pomocí derivátů kyseliny benzesulfonové nebo tercbutyllithia v kombinaci s tetrahydrofuranem. Jelikož je však v průběhu syntézy nutné vytvořit dvě nová aromatická jádra (ať už intramolekulární cyklizací nebo adicí), výtěžek těchto reakcí je relativně nízký.

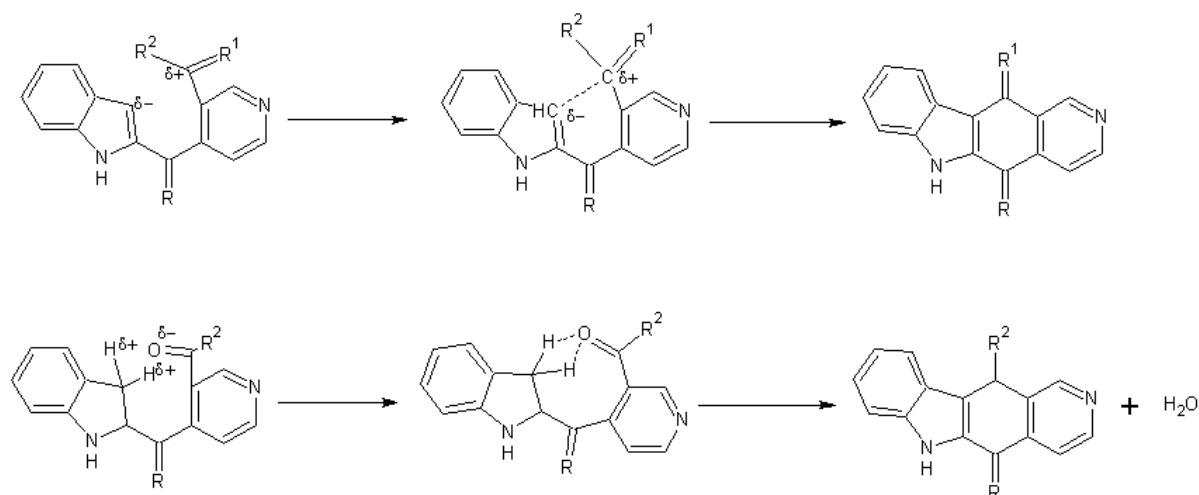
3.1.1 Syntéza ellipticinu adicí derivátu pyridinu na derivát 1-H-indolu¹⁹⁾²⁰⁾

Adice derivátu dusíkatého aromatického šestičlenného jádra pyridinu na indol (*Schema III*) je stěžejním bodem hned dvou syntetických cest, další dvě ji pak nepřímo využívají. Jedná se o velice efektivní způsob adice aromatického jádra, výtěžek této jednokrokové reakce je od 50% do 86%.



Schema III: Schema adiční reakce derivátu pyridinu na derivát 1-H-indolu

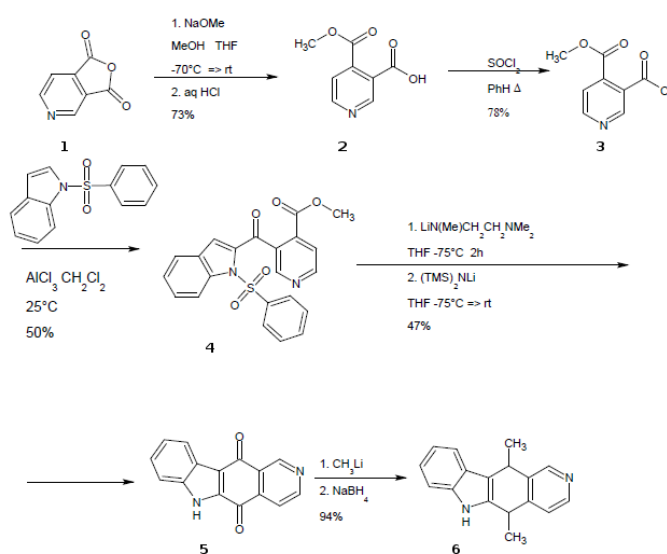
Sloučenina se čtyřmi aromatickými jádry z takového aduktu vzniká dvěma cestami jednoduchou intramolekulární cyklizací (*Schema IV*)



Schema IV: Cyklizační reakce vedoucí ke vzniku ellipticinu

3.1.1.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Ketcha a Gribbleho¹⁹⁾

Roku 1985 byly publikovány výsledky výzkumu autorů Ketcha a Gribbleho¹⁹⁾. Jejich syntéza ellipticinu vychází z dřívějších prací syntézy isoellipticinchinonu popsáných Saulnierem a Gribblem²¹⁾. Výchozí pyridindikarboxyl anhydrid (Schema VI – sloučenina 1) reaguje za snížené teploty ve dvou krocích za tvorby esteru (Schema VI – sloučenina 2) a chlorid (Schema VI – sloučenina 3). Následná acylace indolu vede ke vzniku ketoesteru (Schema VI – sloučenina 4), který se uzavírá na chinon (Schema VI – sloučenina 5), ze

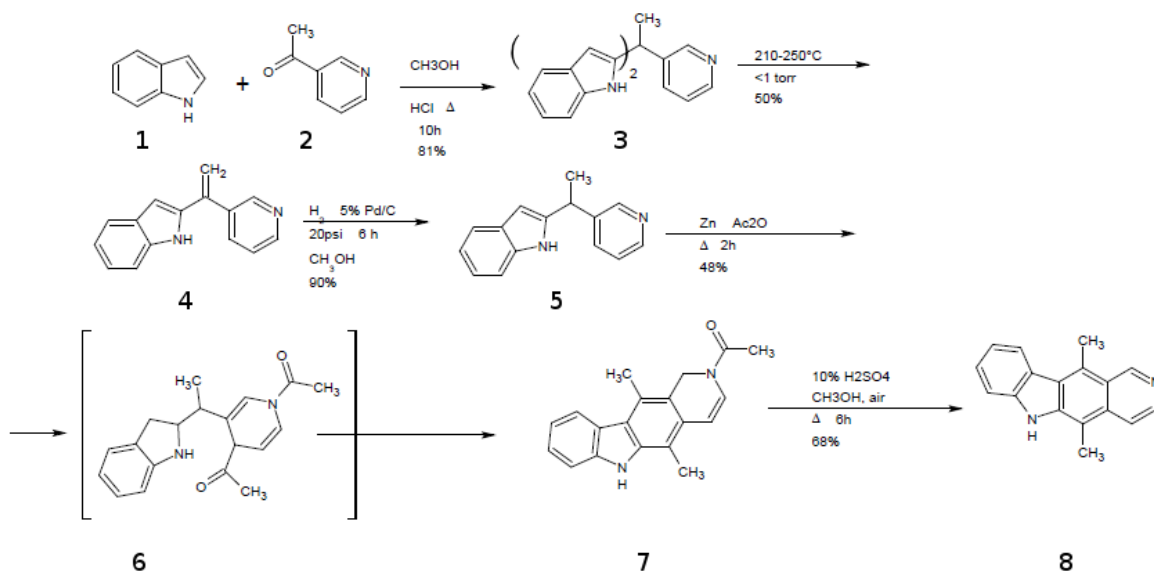


Schema V: Syntetická dráha ellipticinu podle Ketcha a Gribbleho

kterého lze s vysokým výtěžkem získat ellipticin (*Schema VI – sloučenina 6*). Problematický je především poslední krok reakce s výtěžkem pouhých 47%. Celkový výtěžek získaného ellipticinu je pak asi 13%.¹⁹⁾²⁰⁾

3.1.1.2 Syntetická dráha ellipticinu podle Zee a Su¹²⁾

Mnohem elegantnější způsob přípravy ellipticinu využívá syntéza popsaná autory Zee a Su, která představuje modifikaci původní Woodwardsovi syntézy²²⁾ ellipticinu z roku 1959 a syntézy Bermannovy a Carlsonovy²³⁾ z roku 1978. V prvním kroku dochází ke konjugaci acylpyridinu (*Schema VI – sloučenina 2*) a indolu (*Schema VI – sloučenina 1*), výsledný produkt je za sníženého tlaku (menší než 1 torr) a teploty 210-250°C převeden na viny lindol, který podléhá hydrogenaci a následné redukční acylaci za vzniku 2-acetyl-1,2-dihydroellipticinu (*Schema VI – sloučenina 6*). Hydrolýza na vzduchu v kyselém prostředí vede ke vzniku ellipticinu v celkovém výtěžku 12%. Oproti předchozí syntéze dle Ketcha a Gribbleho¹⁹⁾ došlo v mnohém ke zjednodušení. Především vlastní adice pyridinu probíhá mnohem jednodušeji a s větším výtěžkem (81% oproti 50% v



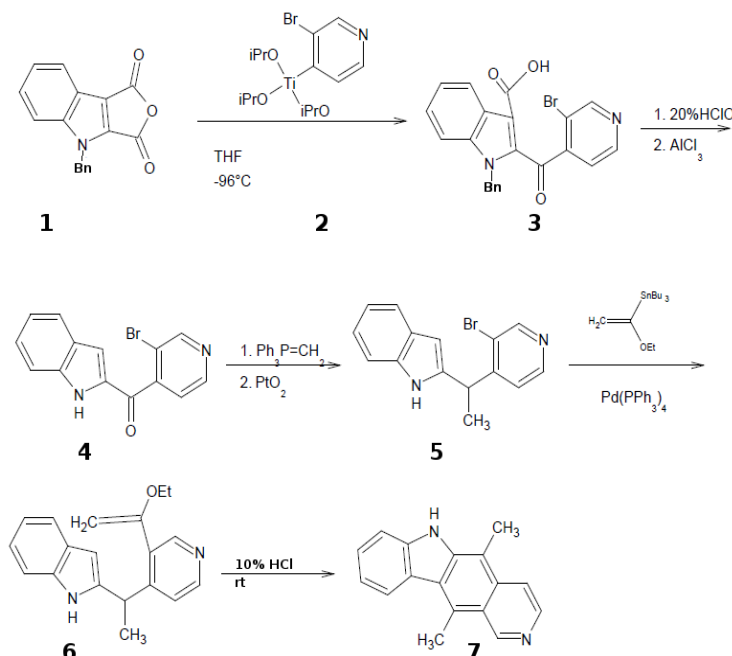
Schema VI: Syntetická dráha ellipticinu podle S.H. Zee a H.P. Su¹²⁾

případě syntézy dle Ketcha a Gribbleho¹⁹⁾). Bohužel nelze zabránit adici dvou pyridinových zbytků! Vytvoření kýženého aduktu je tak možné pouze za velmi obtížných fyzikálních podmínek (nízký tlak a vysoká teplota), což výtěžek tohoto kroku snižuje až na 41%, tedy nižší, než je adice v případě syntézy dle Ketcha a Gribbleho¹⁹⁾.

3.1.1.3 Syntetická dráha ellipticinu podle Yasuyoshi a kolektivu³⁴⁾

Přestože N-benzylindole-2,3-dikarboxyl anhydrid není v pravém slova smyslu látkou se dvěma aromatickými kruhy, poskytuje v prostředí tetrahydrofuranu obdobné reakce.

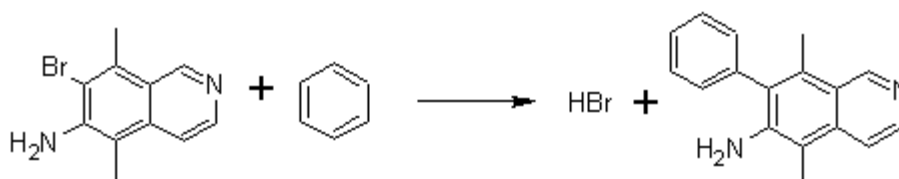
Yasuyoshi Miki et al. uveřejnily v roce 2001³⁴⁾ syntézu ellipticinu která vychází z (3-bromo-4-pyridyl)triisopropoxytitanu (Tuto látku je možné připravit z 3-bromo-4-lithiopyridinu a $\text{ClTi}(\text{OPr})_3$ v THF při -96°). S touto komplexní sloučeninou (*Schema VII – sloučenina 2*) reaguje výchozí N-benzylindol-2,3-dikarboxyl anhydrid (*Schema VII – sloučenina 1*). Následná dekarboxylace a debenzylace je prováděna pomocí AlCl_3 v anisolu při 100°C za vzniku ketonu (*Schema VII – sloučenina 3*), který je Wittigovou reakcí a následnou redukcí přeměněn na 1-(3-bromo-4pyridyl)-1-(2-indolyl)ethan. Následná reakce s nenasyceným ethoxyuhlovodíkem vede k jeho navázání (*Schema VII – sloučenina 6*) a následné cyklizaci za vzniku ellipticinu (*Schema VII – sloučenina 7*). Celkový výtěžek je asi 13%. I když se celkově jedná o jednodušší syntézu, použití sloučenin titanu a cínu její použití komplikuje.



Schema VII: Syntetická dráha ellipticinu podle Yasuyoshi Miki et. al.

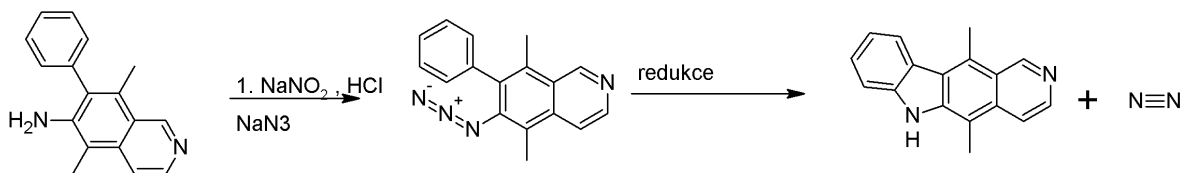
3.1.2 Syntéza ellipticinu adicí benzenu na derivát isochinolinu²⁰⁾²⁴⁾²⁵⁾

Isochinolin – respektive jeho 5,8 dimethylderivát – představuje ideální výchozí látku pro syntézu ellipticinu. Navíc přímá adice benzenu na 5,8-dimethyl-6-amino-7-bromo-isochinolin probíhá s výtěžkem téměř stoprocentním²⁴⁾ (*Schema VIII*).



Schema VIII: Adice benzenu na derivát isochinolinu

Následná intramolekulární cyklizace vzniklého produktu probíhá pomocí azidu podle schématu IX.



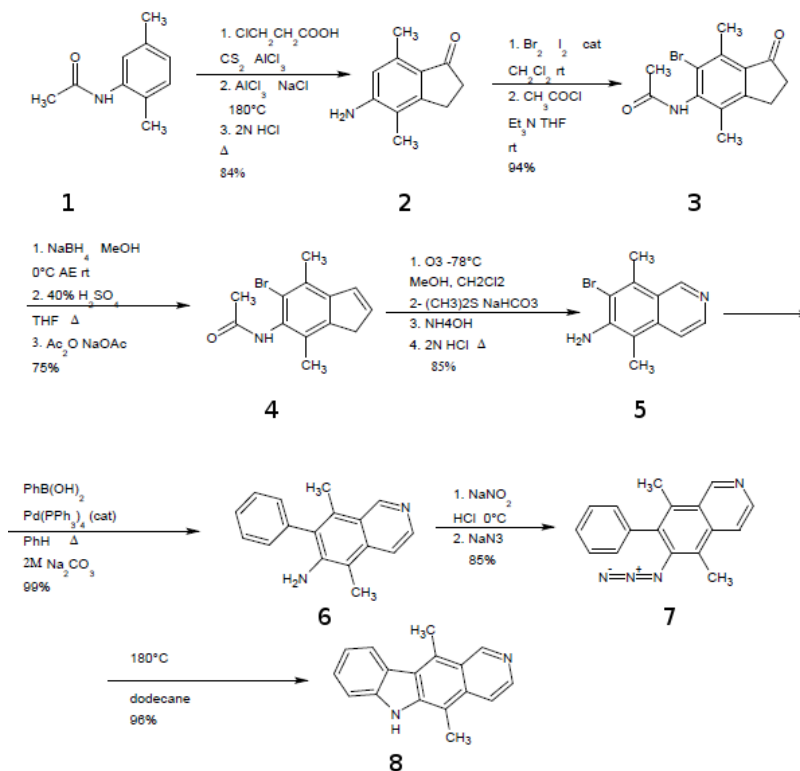
Schema IX: Intramolekulární cyklizace derivátu isochinolinu na výsledný ellipticin

Tuto syntetickou cestu například využívají syntézy ellipticinu podle Miller a Dugara²⁴⁾ nebo Miyakeho et. al.²⁵⁾

3.1.2.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Millera a Dugara²⁴⁾

Nová syntéza ellipticinu podle autorů Millera a Dugara²⁴⁾ vychází z paramethylacetanilidu (*Schema X* – sloučenina 1), který je pomocí několika reakcí s

vysokou výtěžností (75-90%) převeden na inden (Schema X – sloučenina 4). Následný produkt je pomocí Suzukio reakce konjugován na aminoderivát (Schema VI – sloučenina 6), který po diazotaci vytváří azid (Schema X – sloučenina 7). Jeho zahřátím za přítomnosti dodekanu vzniká ellipticin (Schema X– sloučenina 8) v celkovém výtěžku 41%. Při dodržení daných podmínek navíc výtěžek každé dílčí reakce je vždy vyšší než 70%.²⁰⁾²⁴⁾

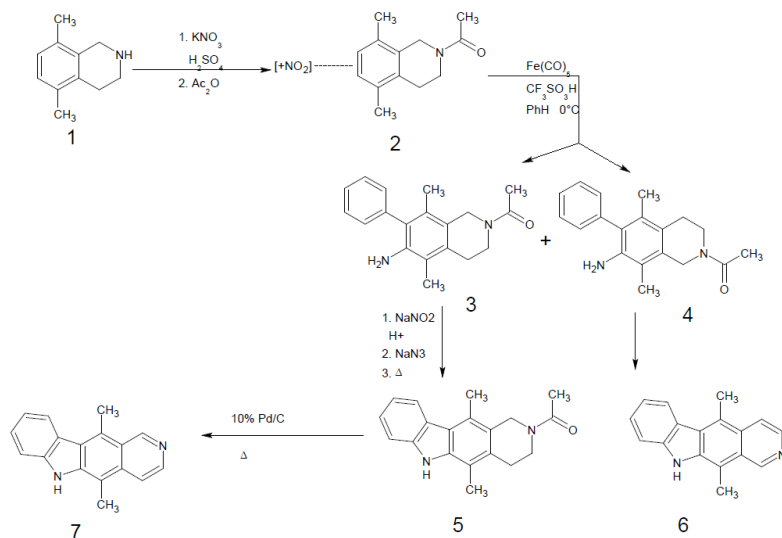


Schema X: Syntetická dráha ellipticinu podle Millera a Dugara²⁴⁾

3.1.2.2 Syntetická dráha ellipticinu podle Miyakeho²⁵⁾

Podobné chování jako isochinolin má i 1,2,3,4 tetrahydrochinolin, jehož dimethylovaný derivát je také možné využít k syntéze ellipticinu. Kolektivu Miyake se spolupracovníky²⁵⁾ se podařilo provést nitraci 5,8-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolinu (Schema XI- sloučenina 1), kterou však vzniká směs dvou nitroderivátů. Přidáním benzenu za přítomnosti pentakarbonylu železa a kyseliny trifluormetansulfonové vzniká směs amidů (Schema XI – sloučeniny 3 a 4) v poměru 2:1. Další reakcí s dusitanem sodným a nitritem sodným dochází k separaci směsi na isoellipticin (Schema XI- sloučenina 6) a prekursor ellipticinu – 5,11-dimethyl-10H-pyrido[3,4-b]karbazolu (Schema XI- sloučenina 5), ze kterého je vlastní ellipticin (Schema XI- sloučenina 7) možné získat dehydrogenací pomocí

Pd/C. Celkový výtěžek této reakce je především díky vzniku izomerů pouze 9%.²⁰⁾²⁵⁾

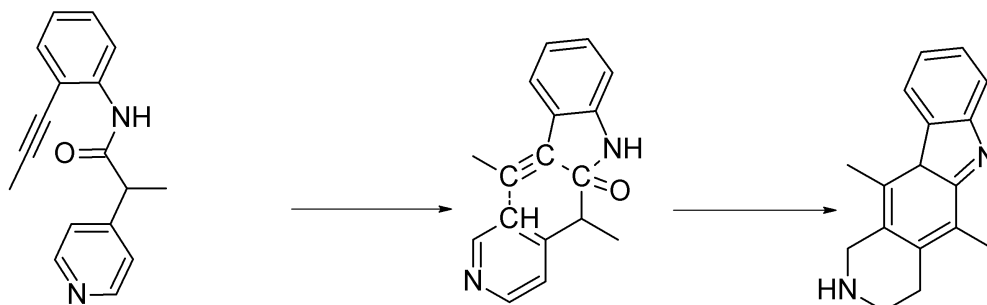


Schema XI: Schema: Syntetická dráha elliptycinu podle Miyakeho et.al.²⁵⁾

3.1.3 Syntéza elliptycinu dvojnásobnou intra-molekulární cyklizací aminu se dvěma aromatickými kruhy²⁶⁾

Naprosto odlišný pohled na syntézu elliptycinu představuje syntéza pomocí dvojnásobné intramolekulární cyklizace. Předpokládá dvě aromatická jádra spojená přesně daným počtem uhlíků a mající nenasycený postranní řetězec. Takovouto podmínku splňuje například N-[2-(propynyl)fenyl]-2-(pyridinyl) propanamid a jeho deriváty. Cyklizace za vzniku sloučeniny se čtyřmi aromatickými jádry je usnadněna v prostředí trifenyfosfinu (Schema XII).

Jak je ze Schematu XII patrné, jedná se o velice složitou intramolekulární

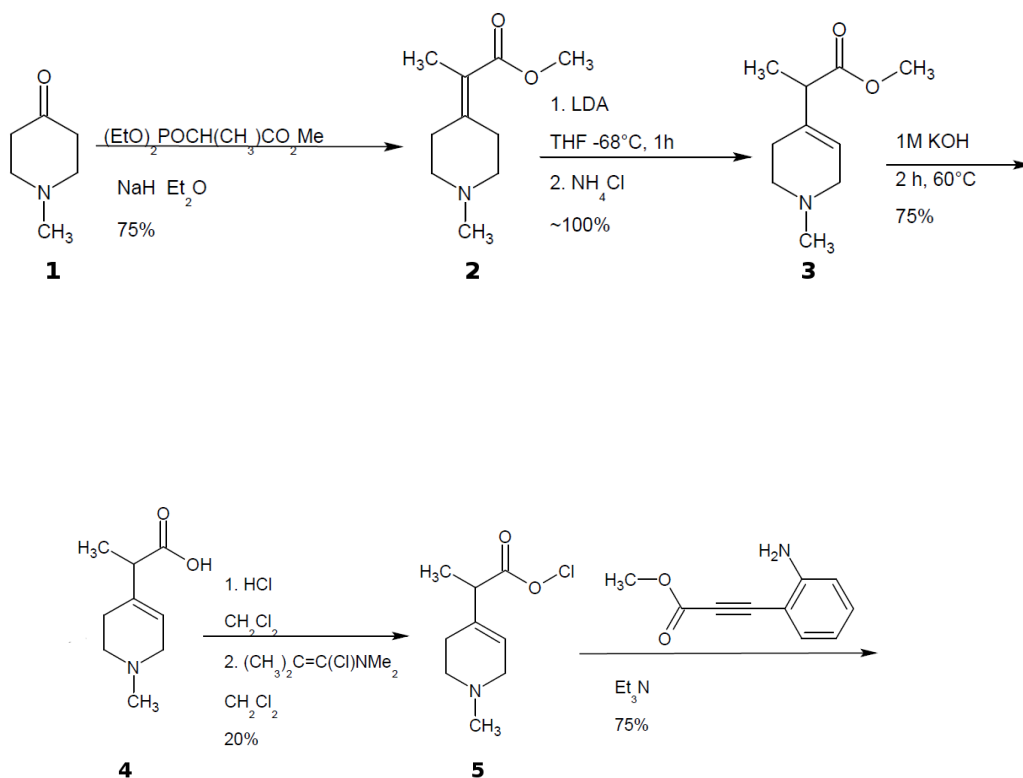


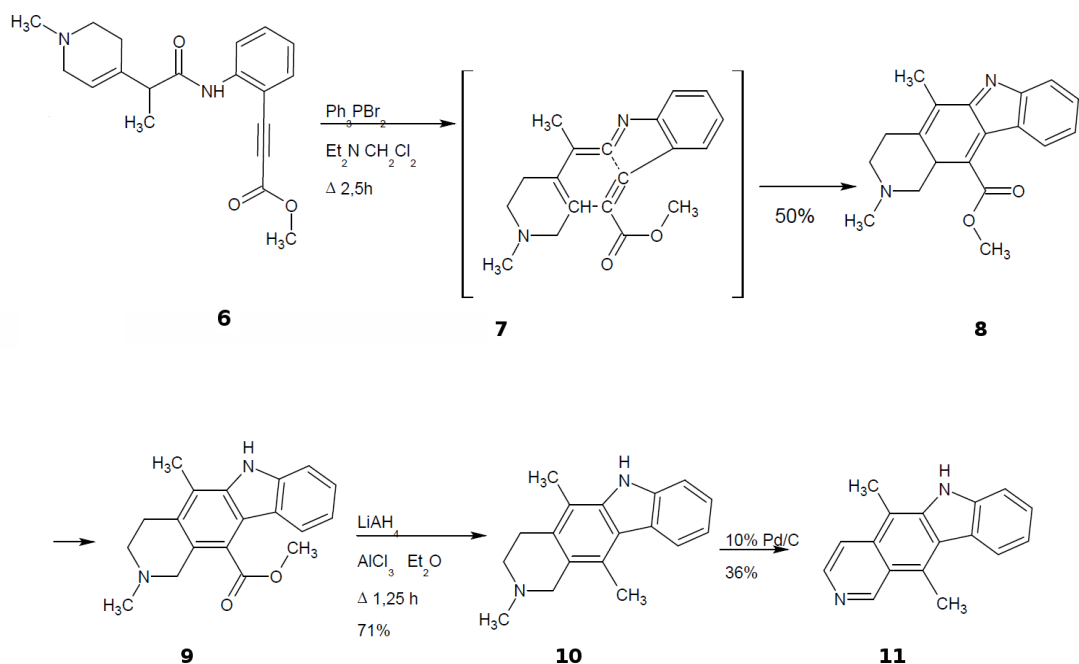
Schema XII: Dvojnásobná intramolekulární cyklizace za vzniku prekursoru elliptycinu

cyklizaci, při které dochází k přesmyku jak mezi uhlíky, tak i dusíky a kyslíkem. Vlastní mechanismus nebyl zatím objasněn. Především kvůli složitá cyklizaci je výtěžek této reakce pouze cca 50%. Nízký výtěžek společně s nepříliš jednoduchými reaktanty vede k tomu, že tento způsob není v současné době příliš využíván. Svou syntézu na něm však vystavěli v osmdesátých letech autoři Differding a Ghosez²⁶⁾.

3.1.3.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Differdinga a Ghoseze²⁶⁾

Syntéza podle Differdinga a Ghoseze²⁶⁾ začíná převedením piperidonu (*Schema XIII- sloučenina 1*) na nenasycený ester (*Schema XIII-sloučenina 2*), ze kterého je následně saponifikací vytvořena kyselina (*Schema XIII-sloučenina 4*). Následná konverze na chlorid a acylace derivátu anylinu dává vznik amidu (*Schema XIII- sloučenina 7*). Cyklizace je usnadněna pomocí trifenyfosfinu, vzniklá sloučenina (*Schema XIII- sloučenina 9*) podléhá izomeraci za vzniku požadované formy tetracyklické sloučeniny (*Schema XIII-sloučenina 10*). Redukce esterové skupiny a dehydrogenace za katalýzy Pd/C vede k tvorbě vlastního ellipticinu (*Schema XIII - sloučenina 11*). Celkový výtěžek této reakce je asi 5%. ²⁰⁾²⁶⁾

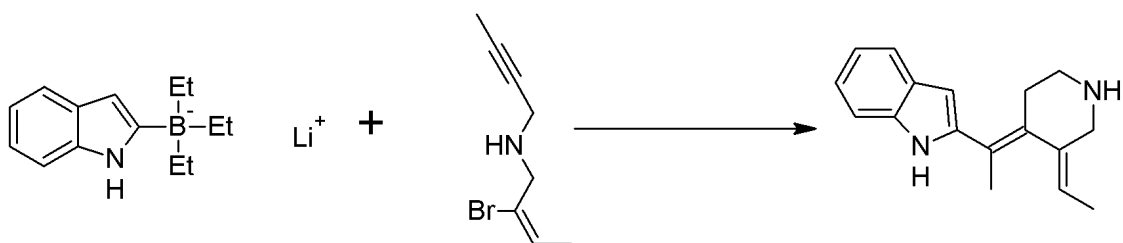




Schema XIII: Syntetická dráha ellipticinu podle Differdinga a Ghoseze²⁰⁾

3.1.4 Využití adice alifatického řetězce na derivát indolu pro syntézu ellipticinu²⁰⁾

Podobnou cestou, jaká byla popsána v kapitole 1.1.3. je možné vysvětlit i cyklizaci látek po adici sloučeniny s přesně daným alifatickým řetězcem v silně iontovém prostředí (Schema XIV) za přítomnosti tetraphenylfosforu a CHCl_3 usnadňujícího Friedel-Craftsovu alkylaci.



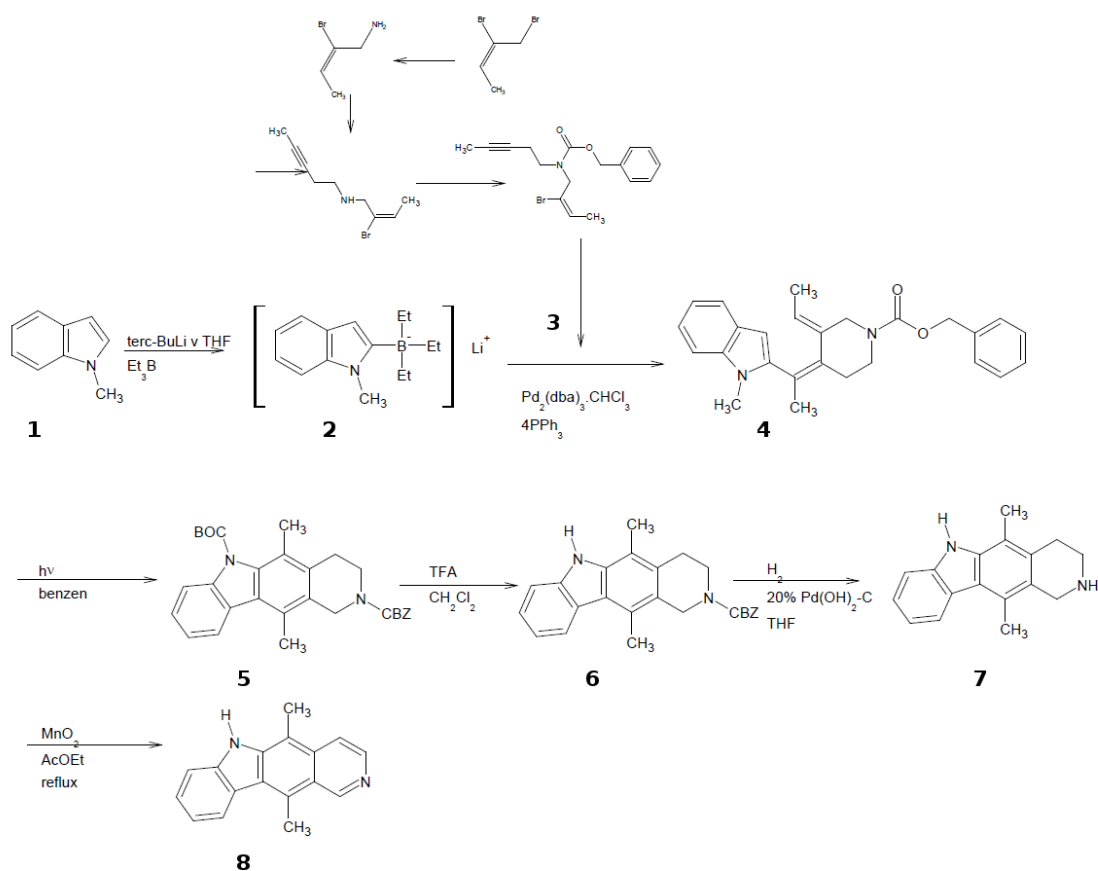
Schema XIV: Adice alifatického řetězce na aromatický kruh

Výsledkem takovéto adice je nový šestičlený nearomatický cyklus, který však v

případě přítomnosti vhodných postranních řetězců umožňuje další intramolekulární cyklizační reakce vedoucí v konečném výsledku až k ellipticinu. Výtěžek této adice lze ovlivňovat vhodnými postranními alifatickými řetězci. Tento způsob syntézy od počátečního indolu až po výsledný ellipticin zveřejnil japonský tým vedený Ishihurou²⁰⁾.

3.1.4.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Ishikura a kolektivu³⁵⁾

Ishikura se spolupracovníky zveřejnili v roce 2000 rozsáhlou studii syntézy pyridokarbazolů³⁵⁾. Její součástí byla i syntéza ellipticinu a to z 1-methyl-indolu (*Schema XV- sloučenina 1*). V prvním kroku reaguje s terc-butyllithiem za vzniku komplexní sloučeniny (*Schema XV- sloučenina 2*). Ta je schopná reagovat s látkou **3** (benzyl [(2*E*)-2-bromobut-2-en-1-yl]pent-3-yn-1-yl karbamát) získanou reakcemi uvedenými ve schematu XI. Další reakce vedou k dokončení a úpravě čtyřnásobného pyridokarbazolového cyklu a redukci (*Schema XV - sloučenina 7*) na aromát a ellipticin (*Schema XV – sloučenina 8*)



Schema XV: Syntetická dráha ellipticinu podle Ishikura et. al.

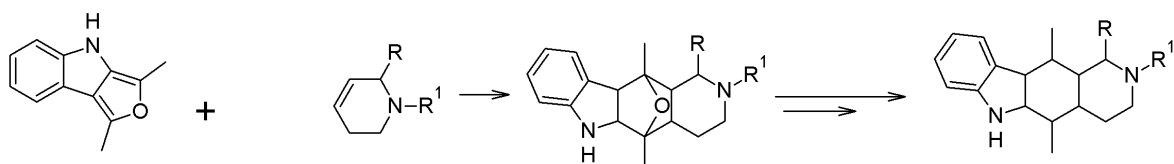
Výsledný výtěžek syntézy je 17,5%, kritickým bodem je však syntéza látky 3, která je nezbytná pro vytvoření nového benzenového kruhu. ³⁵⁾

3.2 Syntesa ellipticinu vycházející ze sloučenin se třemi aromatickými kruhy

Syntézy ellipticinu vycházející ze sloučen se třemi aromatickými kruhy využívají ve většině případů jako prekurzor deriváty furoindolu. Tato sloučeina přímou adicí s nenasyčeným šestičlenným cyklem bez intramolekulární cyklizace nebo alifatickým řetězcem a následnou cyklizací vede k tvorbě ellipticinu. Jedná se tedy o mnohem jednodušší a efektivnější způsob, který za pomoci menšího počtu jednodušších kroků vede k stejným výtěžkům jako syntézy vycházející z dvou aromatických cyklů.

3.2.1 Syntéza ellipticinu adicí šestičleného cyklu na furoindol²⁷⁾²⁸⁾²⁹⁾

Adice sloučenin s šestičleným cyklem na furoindol využívá nejčastěji dienofilní adici. Je tedy třeba najít takový nenasycený šestičlený cyklus, jehož dusík bude v takové pozici, aby po vytvoření kýženého derivátu elliptycinu byl dusík v pozici 2. Přímou adicí vzniká nejprve metastabilní kyslíkatý produkt, který dalšími reakcemi vytváří kýženou cílovou molekulu elliptycinu (Schema XVI).

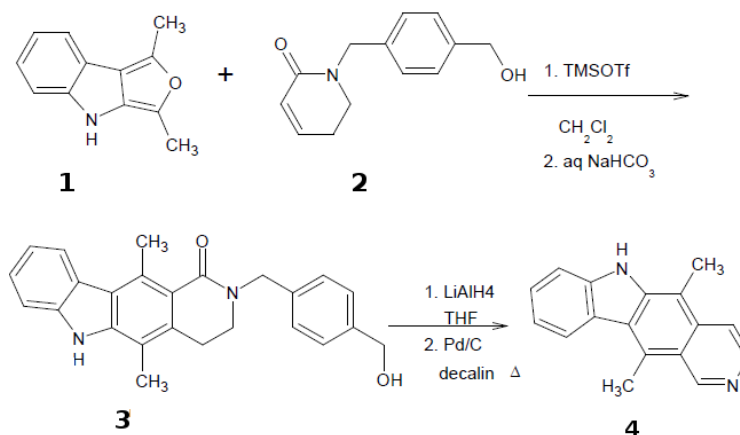


Schema XVI: Adice šestičleného nenasyceného cyklu na furoindol

Takováto cesta umožňuje v konečnom dôsledku velice jednoduchou (v mnohých prípadoch pouze dvoukrokovou) syntézu ellipticinu při zachování vysokých výtěžků.

3.2.1.1 Syntetická dráha elliptycinu podle Davise a Gribbleho²⁷⁾

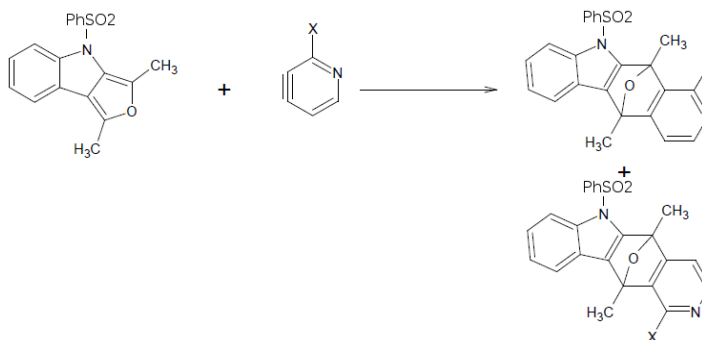
Gribble se po úspěšné syntéze elliptycinu v roce 1985¹⁹⁾ do návrhu nového způsobu syntézy elliptycinu pustil společně s Davisem v roce 1990. Použili nenasycený laktam (*Schema XVII – sloučenina 2*), který jako dien reaguje s dienofilem (*Schema XVII – sloučenina 1*) v prostředí trimethylsilyl trifluormethansulfonátu. Následná redukce a dehydrogenace vede ke vzniku požadovaného elliptycinu (*Schema XVII – sloučenina 4*). Jedná se o relativně jednoduchou dvoukrokovou syntézu, výtěžek je však pouze 18%.²⁰⁾²⁷⁾



Schema XVII: Syntetická dráha elliptycinu podle Davise a Gribbleho

3.2.1.2 Syntetická dráha elliptycinu podle Diaze, Cobase a Gutiána²⁸⁾

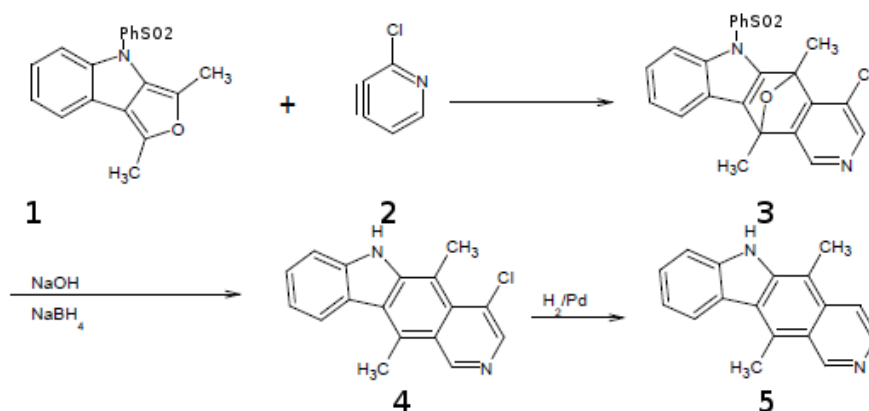
V roce 2001 provedl Diaz, Cobas a Guitián experimenty s novými cyklizačními reakcemi, jejichž výsledkem byla nová cesta syntézy derivátů karbazolu²⁸⁾ (*Schema XVIII*).



Schema XVIII: Adice šestičleného cyklu na derivát na aromatický dien.

Pro X=Cl je výsledkem směs 1 a 4 chlorderivátů v poměru 2,4:1, výtěžek reakce je 88%.

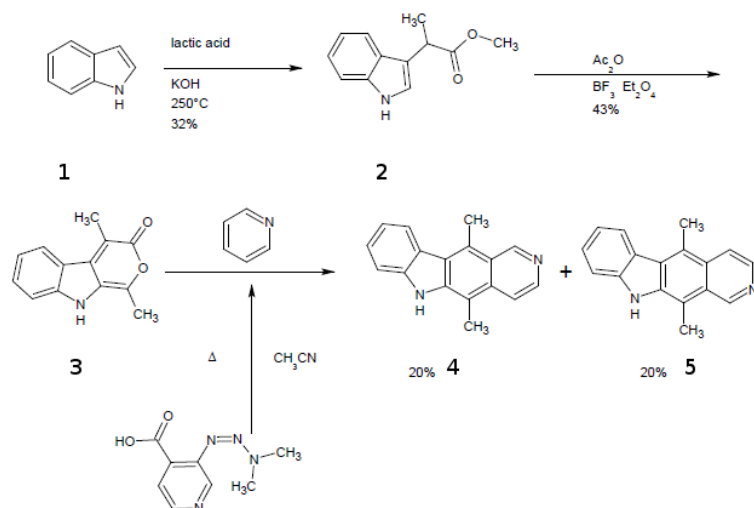
Tyto poznatky byly využity k navržení postupu syntézy ellipticinu (*Schema XIX*), která z výchozího dienu (*Schema XIX – sloučenina 1*) cykloadicí s 2-chloro-3,4-didehydropyridinem (*Schema XIX – sloučenina 2*) vytváří oxoderivát karbazolu (*Schema XIX – 3*) s výtěžkem 62%. Tato sloučenina je dále s výtěžkem 96% převedena na chlorellipticin (*Schema XIX – sloučenina 4*). Vlastní ellipticin (*Schema XIX – sloučenina 5*) se tvoří hydrogenací. Celkový výtěžek této syntézy je 55%. Jedná navíc o technologicky velice jednoduchou syntézu, při které není třeba žádných extrémních podmínek (teploty ani tlaku).²⁰⁾²⁸⁾



Schema XIX: Syntetická dráha ellipticinu Podle Diaze, Cobase a Gutiána²⁸⁾

3.2.1.3 Syntetická dráha ellipticinu podle Maye a Moodyho²⁹⁾

Na principu Diels-Alderovských cykloadičních reakcí je založena i syntéza ellipticinu a isoellipticinu prezentovaná v roce 1988 Mayem a Moodym²⁹⁾. Základní látkou není furoindol jako v předchozích případech, ale o jeden atom větší pyranoindol. Výchozí látkou je indol (*Schema XX-sloučenina 1*), který je pomocí kyseliny mléčné převeden na kyselinu 3-indol-2-propionovou (*Schema XX-sloučenina 2*). Následná intramolekulární cyklizace výše zmiňovaný pyranoindol (*Schema XX-sloučenina 3*), který reakcí s 3,4-didehydropyridinem vede k syntéze ellipticinu (*Schema XX-sloučenina 4*) a isoellipticinu (*Schema XX-sloučenina 6*) v poměru 1:1. Celkový výtěžek této reakce je však pouze 3%, na druhou stranu se syntéza z indolu až na ellipticin skládá pouze ze tří jednoduchých kroků!²⁰⁾²⁹⁾



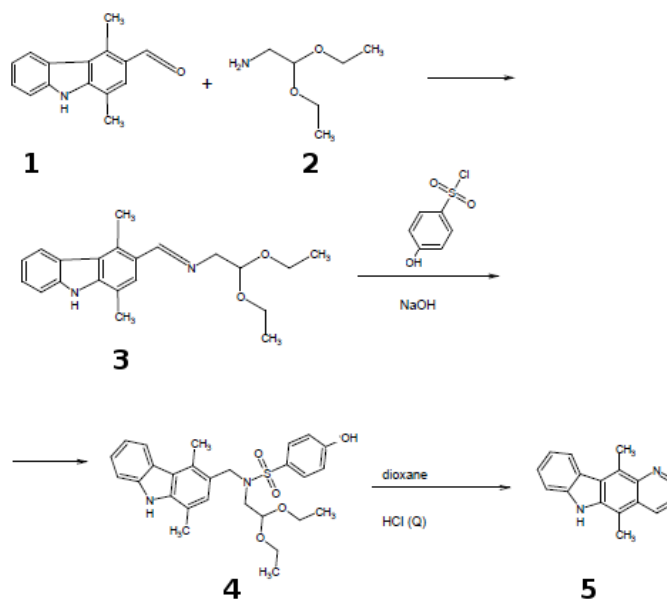
Schema XX: Syntetická dráha ellipticinu podle Maye a Moodyho²⁹⁾

3.2.2 Syntéza ellipticinu adicí aminu na karbazol-3-karbaldehyd

Kondenzační reakce aldehydické a aminoskupiny na Schiffovu bázi představuje základní reakci několika syntéz ellipticinu. Vlastní derivát ellipticinu vzniká intramolekulární cyklizací v kyselém prostředí v přítomnosti dioxanu. Cyklizaci je možné usnadnit adicí vhodných N-derivátů. Oproti výše uvedeným syntézám je však výtěžek velmi malý.

3.2.2.1 Syntetická dráha ellipticinu podle Jacksona a kolektivu³⁰⁾

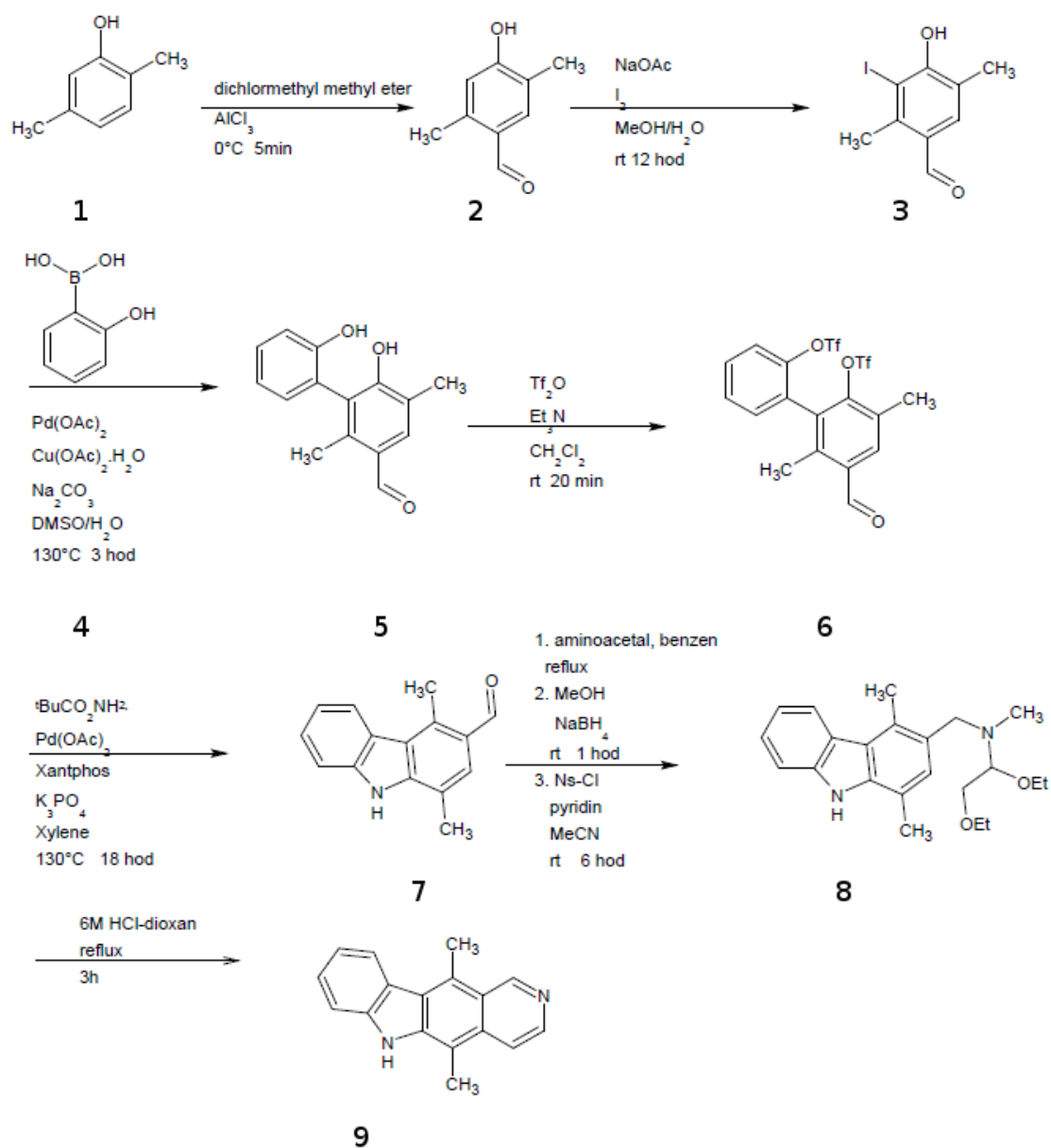
V roce 1977 byla zveřejněna studie Jacksona, Jenkinse a Shannona³⁰⁾, kteří navrhli syntézu ellipticinu z výchozího aldehydového derivátu karbazolu (Schema XXI – sloučenina 1), který kondenzuje s aminoacetaldehyd-diethylacetalem (Schema XXI – sloučenina 2). Vzniklá Schiffova báze byla převedena na N-tosyl derivát (Schema XXI – sloučenina 4), který varem v roztoku HCl a dioxanu vytváří ellipticin (Schema XXI – sloučenina 5).



Schema XXI: Syntetická dráha elliptycinu podle Jacksona et.al.

3.2.2.2 Syntetická dráha elliptycinu podle Konakahary a kolektivu

V roce 2010 byla zveřejněna zatím poslední známá syntéza elliptycinu, využívající opět Suzuki-Miyaurovo párování. Autorem je skupina Konakahary³¹⁾, která vychází z 2-hydroxyxyleny (Schema XXII– sloučenina 1), který reakcí s etherem v AlCl_3 za snížené teploty poskytuje aldehyd (Schema XXII – sloučenina 2). Ten je následně iodován (Schema XXII– sloučenina 3) a konjugován s hydroxybenzenboritou kyselinou za vzniku bifenylyl trifluormethansulfonátu (Schema XXII– sloučenina 5). Tento komplex snadno přechází při vyšší teplotě na deriváty karbazolu (Schema XXII – sloučenina 6) a reakcí s pyrididem na vlastní ellipticin (Schema XXII– sloučenina 9). Přestože se jedná o jednu z nejnáročnějších syntéz elliptycinu, celkový výtěžek je pouze 11%! ²⁰⁾³¹⁾

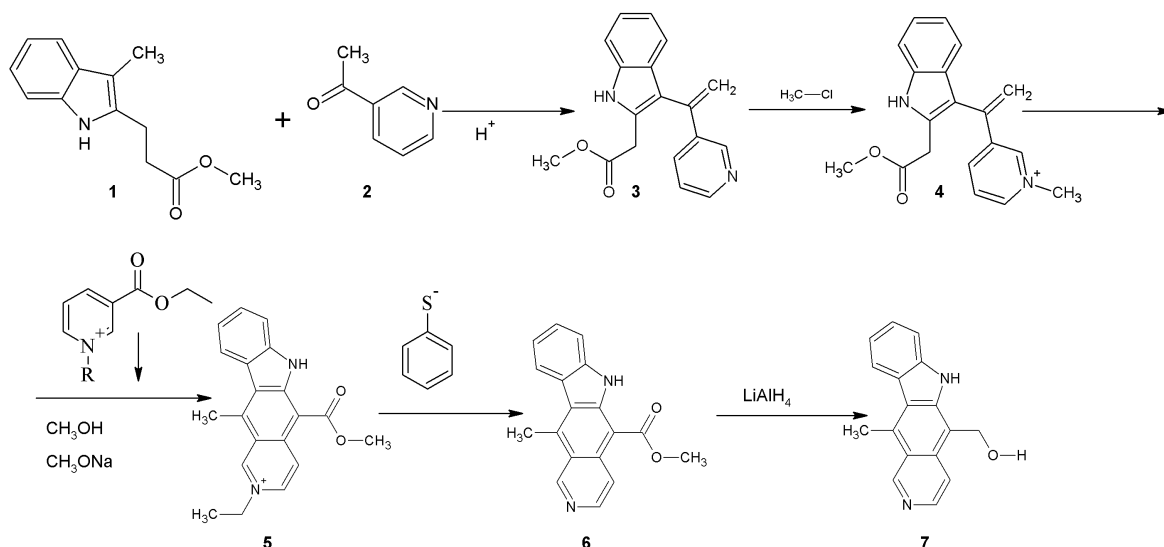


Schema XXII: Syntetická dráha ellipticinu podle Konakahary et.al.

4 Příprava 13-hydroxyellipticinu

Vlastní ellipticin není možné hydroxylovat v pozici C-13, aniž by došlo k současné hydroxylaci dalších poloh. Příprava 13-hydroxyellipticinu tedy představuje několikrakovou syntézu, kterou lze provést dvěma různými způsoby – buď syntézou derivátu ellipticinu *de novo* z vhodných prekurzorů nebo adici chránících a směřujících skupin na vlastní ellipticin, které vedou k hydroxylaci převážně do polohy C-13.

V současné době jsou známy tři syntézy 13-hydroxyellipticinu. První úspěšné pokusy o syntézu 13-hydroxyellipticinu *de novo* byly provedeny v roce 1986 týmem Archera a spolupracovníků³²⁾. Vychází ze syntézy pyridinu stejně jako autoři uvedení v oddíle 3.1.1. Jako výchozí látka byl také použit derivát indolu. Oproti syntézám podle Ketcha a Gribbleho je zde však v pozici 2 acetátová skupina, která umožňuje vznik právě hydroxyderivátu v této pozici. Výchozí látka methyl indol-2-acetát (*Schema XXIII – sloučenina 1*) kondenzuje s 3 acetylpyridinem (*Schema XXIII – sloučenina 2*) v kyselém prostředí za vzniku derivátu vinylindolu (*Schema XXIII – sloučenina 3*), který je však nevhodný pro přímou cyklizační reakci, pyridinové jádro je příliš stabilní. Proto je před vlastní cyklizací derivát vinylindolu převeden na kvartérní sůl (např. methyl- nebo benzylamoniovou sůl) (*Schema XXIII – sloučenina 4*). Cyklizace je následně provedena v prostřední methanolu a methoxidu sodného, katalyzátorem reakce je kvartérní sůl ethylnikotinátu. Teprve zahřátím s nukleofilním činidlem (např. s thiofenoxidovým iontem) dojde k odstranění nabitého zbytku kvartérní soli a vzniku požadovaného esteru (*Schema XXIII – sloučenina 6*). Reakcí s LiAlH_4 vzniká 13-hydroxyellipticin, přičemž poslední

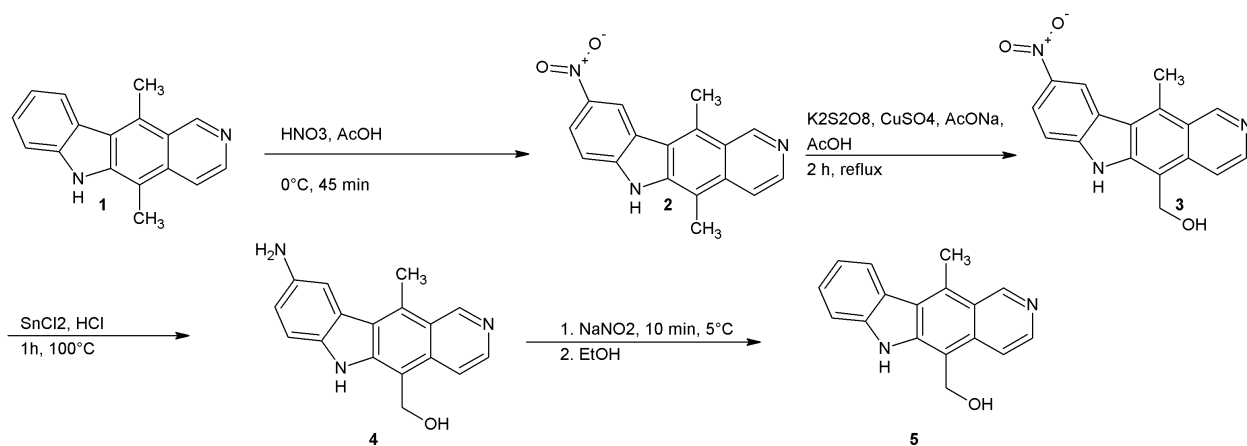


Schema XXIII: Syntéza 13-hydroxyellipticinu de novo³²⁾

rok reakce má výtěžek více než 50%. Sice tedy byla syntetizovaná požadovaná látka, postup však neumožňuje využít již dříve nasyntetizovaný ellipticin (*Schema XXIII – sloučenina 7*).

Naprosto jiný způsob syntézy byl využit v roce 2007 Dračinským a spolupracovníky³³⁾, kteří navrhli metodu hydroxylace methylové skupiny benzylu v již syntetizované molekule ellipticinu. Tyto skupiny jsou v ellipticinu dvě – v pozici 12 a 13. Jako chránící a směřující skupina na 13-hydroxyderivát ellipticinu byla použita nitroskupina.

V prvním kroku je tedy ellipticin (*Schema XXIV, sloučenina 1*) převeden na 9-nitroellipticin (*Schema XXIV, sloučenina 2*), který je možné z původního ellipticinu připravit s výtěžkem téměř 73%. Nitroderivát je následně oxidován pomocí $K_2S_2O_8$, čímž je do pozice 13 vnesena hydroxylová skupina (*Schema XXIV, sloučenina 3*). Zároveň je nitroskupina redukována pomocí $SnCl_2$ na aminoskupinu (*Schema XXIV, sloučenina 4*). V posledním kroku je pomocí diazotace a následné redukce odštěpena aminoskupina a vzniká požadovaný 13-hydroxyellipticin (*Schema XXIV, sloučenina 5*). Celkový výtěžek syntézy 13-hydroxyellipticinu z ellipticinu je téměř 20%!



Schema XXIV: Syntéza 13-hydroxyellipticinu vycházející z již nasyntetizované molekuly ellipticinu³³⁾

5 Závěr

Z dostupné literatury se podařilo zjistit různé metodické přístupy k syntéze ellipticinů, které poskytují různý výtěžek a vyžadují i různou obtížnost provedení.

Bylo zjištěno, že v současné době nejvíce používané syntetické cesty pro ellipticin a 13-hydroxyellipticin vycházejí z látek se třemi aromatickými kruhy, na který je různými způsoby připojen čtvrtý aromatický kruh. V tomto ohledu se výhodnými zdají především syntézy podle Diaze, Copaze a Gutiána ²⁸⁾ (oddíl 3.2.1.2), jejíž výtěžek je již v současném provedení 88%, přičemž výchozí dien je navíc velice dobře modifikovatelný a umožňuje přípravu snadnou derivátů v pozici 6,7,8,9,10; a syntéza podle Maye a Moodyho ²⁹⁾ (oddíl 3.2.1.3), která sice v současné době dosahuje výtěžku pouze 3%, tento nízký výtěžek je však dán především tvorbou dvou izomerů (*Schema XX, součineniny 4 a 5*) při adici. Tato syntéza také nevyžaduje složité technologické podmínky ani chemikálie, vhodnou modifikací pyranoindolu (*Schema XX, sloučenina 3*) popř. 3,4-didehydropyridinu by tedy bylo možné ovlivnit preferenční tvorbu ellipticinu před isoellipticinem, což by stálo za další zkoumání.

6 Literatura

- 1) Kuo, Y.-Ch., Kuo, P. L., Hsu, Y.-L., Chien-Yu Cho, C.-Y., Lin, C.-C.: Ellipticine induces apoptosis through p53-dependent pathway in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells . *Life Sciences*, 78, s. 2550-2557 (2006)
- 2) Stiborova, M., Frei, E.: Targeting of ellipticine drugs on tumor cells. *Chemické listy*, 95, s. 549-555. (2001)
- 3) WWW: <http://www.flickr.com/photos/22616984@N07/2237700580> [cit. 2010-03-08]
- 4) Jain, S.C., Bhandary, K.K., Sobell, H.M.: Visualization of drug--nucleic acid interactions at atomic resolution. VI. Structure of two drug--dinucleoside monophosphate crystalline complexes, ellipticine--5-iodocytidylyl (3'-5') guanosine and 3,5,6,8-tetramethyl-N-methyl phenanthroline--5-iodocytidylyl (3'-5') guanosine. *Journal of Molecular Biology*.135, s. 813-840 (1979)
- 5) Elcock, A.H.; Rodger, A.; Richards, W.G.: Theoretical studies of the intercalation of 9-hydroxyellipticine in DNA. *Biopolymers*. 39, s. 309-329. (1996)
- 6) Canals, A., Purciolas, M., Aymamí, J., Coll, M.: The anticancer agent ellipticine unwinds DNA by intercalative binding in an orientation parallel to base pairs. *Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography*. 61, s. 1009-1012 (2005)
- 7) Stiborová, M., Sejbál, J., Bořek-Dohalská, L., Aimová, D., Poljaková, J., Forsterová, K., Rupertová, K., Wiesner, J., Hudeček, J., Wiessler, M., Frei, E.: The Anticancer Drug Ellipticine Forms Covalent DNA Adducts, Mediated by Human Cytochromes P450, through Metabolism to 13-Hydroxyellipticine and Ellipticine N2-Oxide. *Cancer Research* .64, s. 8374-8380, (2004)
- 8) Poljaková, J., Eckschlager, T., Hrabeta, J., Hřebáková, J., Smutný, S., Frei, E., Martínek, V., Kizek, R., Stiborová, M.:The mechanism of cytotoxicity and DNA adduct formation by the anticancer drug ellipticine in human neuroblastoma cells. *Biochemical Pharmacology*. 77(9), s. 1466-1479. (2009)
- 9) Multon, E., Riou, J. F., LeFevre, D., Ahomadegbe, J. C., Riou, G.: Topoisomerase II-mediated DNA cleavage activity induced by ellipticines on the human tumor cell line N417. *Biochemical Pharmacology*. 38(13): s. 2077-2086 (1989)
- 10) Fossé, P., René, B., Bret, M. Le, Paoletti, C., Saucier, J.M. : Sequence requirements for mammalian topoisomerase II mediated DNA cleavage stimulated by an ellipticine derivative . *Nucleic Acids Research* 19(11), s. 2861–2868. (1991)
- 11) Lee , C. C., Huang, T.-S.: A Novel Topoisomerase II Poison GL331 Preferentially Induces DNA Cleavage at (C/G)T Sites and Can Cause Telomere DNA Damage. *Pharmaceutical Research* 18(6), s. 846-851 (2001)
- 12) Yoon, H. J., Choi, I. Y., Kang, M. R., Kim, S. S., Muller, M. T., Spitzner, J. R., Chung, I. K.: DNA topoisomerase II cleavage of telomeres in vitro and in vivo. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1395(1), s. 110-120, (1991)
- 13) Fang, K., Chen, S. P., Lin, C. W., Cheng, W. C., Huang, H. T.: Ellipticine induced apoptosis depends

- on Akt translocation and signaling in lung epithelial cancer cells. *Lung Cancer*, 63(2), s. 227-234, (1998)
- 14) Hägg, M., Berndtsson, M., Mandic, A., Zhou, R., Shoshan, M. C., Linder, S.: Induction of endoplasmic reticulum stress by ellipticine plant alkaloids. *Molecular Cancer Therapeutic*, 3(4), s. 489-497, (2004)
 - 15) WWW: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Signal_transduction_v1.png [cit. 2010-05-04]
 - 16) Chadwick, M.: Comparative physiological disposition of ellipticine in several animal species after intravenous administration. *Drug Metabolism and Disposition : the biological fate of chemicals*. 6, s. 528-554, (1978)
 - 17) Branfman, A. R., Bruni, R. J., Reinhold, V. N., Silveira, D. M., Chadwick, M.: Yesair DWCharacterization of the metabolites of ellipticine in rat bile. *Drug Metabolism and Disposition*, 6, s. 542-548, (1978)
 - 18) Stiborová, M., Arlt, V. M., Henderson, C. J., Wolf, C. R., Kotrbová, V., Moserová, M., Hudecek, J., Phillips, D. H., Frei, E.: Role of hepatic cytochromes P450 in bioactivation of the anticancer drug ellipticin Studies with the hepatic NADPH: Cytochrome P450 reductase. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 226(3), s. 318-327, (2008)
 - 19) Ketcha, D. M., Gribble, G. W.: A convenient synthesis of 3-acylindoles via Friedel Crafts acylation of 1-(phenylsulfonyl)indole. A new route to pyridocarbazole-5,11-quinones and ellipticine. *Journal of Organic Chemistry*, 50 (26), s. 5451–5457, (1985)
 - 20) Gribble, G. W.: Synthesis and Antitumor Activity of Ellipticine Alkaloids and Related Compounds, in *The Alkaloids* (Ed. A. Brossi), Vol. 39, Academic Press, New York 1990, s. 239–343. ISBN 0-12-469536-6.
 - 21) Saulnier, M. G., Gribble, G. W.: Synthesis of 17-oxoellipticine. *Tetrahedron Letters*. 36 (24), s. 3831-3834 (1983)
 - 22) Woodward, R. B., Lacobucci, G. A.:The Synthesisof Ellipticine. *Journal of American Chemical Society*, 81, s. 4434-4435, (1959)
 - 23) Bergman, J. Carlsson, R.: Syntheses. *Tetrahedron Letters*, 33, s. 4663, (1977)
 - 24) Miller, R. B., Dugar, S.: A regiospecific total synthesis of ellipticine via nitrene insertion. *Tetrahedron Letters*. 30 (3), s. 297-300, (1989)
 - 25) Miyake, S., Sasaki, A., Ohta, T., Shudo, K.: Improved procedure for the reductive phenylation and cyclization of nitroarenes. *Tetrahedron Letters*. 26(47), s. 5815-5818, (1985)
 - 26) Differding, E. Ghosez, L.: Intramolecular diels-alder cycloadditions of vinylketenimines. A convergent route to carbazoles and pyridocarbazole alkaloids. *Tetrahedron Letters*. 51 (17), s. 2335-2338, (2010)
 - 27) Davis , D. A., Gribble, G. W.: A regioselective diels-alder synthesis of ellipticine. *Tetrahedron Letters*. 31 (8), s. 1081-1084, (1990)
 - 28) Díaz, M., Cobas, A., Guitián, E., Castedo, L.: Synthesis of Ellipticine by Hetaryne Cycloadditions - Control of Regioselectivity. *European Journal of Organic Chemistry*. 23, s. 4543 – 4549, (2001)
 - 29) May, C., Moody, C.: A new precursor to 3,4-didehydropyridine, and its use in the synthesis of the

- antitumour alkaloid ellipticine. *Journal of Chemical Society : Perkin Transaction*, 1, s. 247 – 250, (1988)
- 30) Jackson, A. H., Jenkins, P. R., Shannon, P. V. R.: A new approach to the synthesis of ellipticines, *Journal of Chemical Society : Perkin Transaction*, 1, s. 1698 – 1704, (1977)
- 31) Konakahara, T., Kiran, Y. B., Okuno, Y., Ikeda, R., Sakai, N.: An expedient synthesis of ellipticine via Suzuki–Miyaura coupling. *Tetrahedron Letters*, 51(17), s. 2335-2338, (2010)
- 32) Archer, S., Ross, B. S., Livia P. M., Cioli, D.: Synthesis and Biological Properties of Some 6H-Pyrido[4,3-b]carbazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50 (26), s. 5451–5457, (1985)
- 33) Dračinský, M., Sejbál, J., Rygerová, B., Stiborová, M.: An efficient modification of ellipticine synthesis and preparation of 13-hydroxyellipticine. *Tetrahedron Letters*, 48(39), s. 6893-6895, (2007)
- 34) Yasuyoshi, M., Hachiken, H., Yanase, N.: Synthesis of ellipticine by reaction of 1-(4-methoxybenzyl)indole-2,3-dicarboxylic anhydride with (3-bromo-4-pyridyl)triisopropoxytitanium, *Journal of Chemical Society : Perkin Transaction*, 1, s. 2213 - 2216, (2001)
- 35) Ishikura, M., Hino, A., Katagiri, N. :An efficient total synthesis of ellipticine, *Heterocycles*, 53 (1), s. 11-14 (2000)

Svoluji k zapůjčení této práce pro studijní účely a prosím, aby byla řádně vedena evidence vypůjčovatelů

| Jméno a příjmení S adresou | Číslo OP | Datum vypůjčení | Poznámka |
|---------------------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |